Über Erythrodextrin IIα und Amylose ▣

Dr. ing. Fritz Feistmann.

Über

Erythrodextrin II α

und

Amylose.

Von der

K. Technischen Hochschule zu München

zur Erlangung der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften (Doktor-Ingenieurs) genehmigte Dissertation.

ACAD. LUGDUNAT. BIBL.

Vorgelegt von

Fritz Feistmann, Diplom-Ingenieur

aus München.

Referent:

Prof. Dr. C. J. Lintner

Korreferent:

Prof. Dr. Andreas Lipp

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juni 1909.

München 1909.

Druck von H. Kutzner, Frauenstrasse 20.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555418_0061

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. C. J. Lintner im gärungschemischen Laboratorium der Kgl. Technischen Hochschule zu München ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochgeschätzten Lehrer, Herrn Prof. Dr. C J Lintner, für das wohlwollende Interesse, welches er meinen Studien und dieser Arbeit stets entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Die chemische Zusammensetzung des Stärkekornes, sowie seiner primären Spaltungsprodukte, der Dextrine, ist gleichwie die Theorie des Verzuckerungsprozesses trotz einer fast unübersehbaren Fülle von Arbeiten, die sich mit diesen Fragen beschäftigten, noch keineswegs geklärt.

Die meisten Forscher stimmen darin überein, dass die Rohstärke keine einheitliche Substanz ist, sondern ein Gemenge zweier durch ihre verschiedene Löslichkeit gekennzeichneten Bestandteile.

Es sei eine kurze Zusammenstellung der wichtigsten Beobachtungsergebnisse in dieser Beziehung angegeben.

Jahr	Forscher	Bezeichnung des lösl. Teils d. Stärke.	Bezeichnung des unlösl. Teils	Literatur
1819	Saussure	Amidine	"Cellulose" (ligneux amylacée)	Ann. chim. 2. ser. XI. 379
1825	Raspail	„Gummi"	Hüllen	Ann. d. sciences natur. 1825. 1826.
1834	Guérin-Varry	Amidin soluble	Tegumente	Ann. chim. phys. II. 56. 225
1834	Payen u. Persoz	Amidone	Hüllen	Ann. ch. ph II. 337.
1858	Nägeli	Granulose	Cellulose	Stärkekörner Zürich 1858.
1879	Brown & Héron	lösl. Amylose	Amylocellulose	Ann. 199. 165.

Die Trennung der beiden Stärkebestandteile gelingt nach diesen Forschern durch alleinige Einwirkung des Wassers oder durch Diastase, welche die Granulose (Amidine, lösl. Amylose etc.) zu lösen vermag, dagegen die celluloseartige Substanz ungelöst lässt. Letztere soll 3—4% des Stärkekornes betragen, der eigentliche Stärkekörper ist, abgesehen von dieser Beimengung chemisch als durchaus homogen zu betrachten. Man nahm ferner an, dass diesem Körper die Fähigkeit, Kleister zu bilden zuzuschreiben ist. Die Kleisterbildung gehe in der Weise vor sich, dass Wasser durch die Hüllen in das Innere des Kornes dringt und durch die entstehende Quellung diese zum Platzen bringt.

Die Verflüssigung des Kleisters geht der Verzuckerung voraus. Verzuckert man Stärkekleister mit diastatischem Enzym, so erhält man auch bei günstigsten Bedingungen nur etwa 80% Maltose, während die übrigen 20% der Einwirkung des Malzfermentes widerstehen, bezw. erst nach sehr langer Zeit oder nach Entfernung des gebildeten Zuckers durch Vergärung, teilweise, bezw. vollständig hydrolysiert werden. Der nicht verzuckerbare Anteil besteht aus Dextrinen, welche sich mit Jodlösung nicht färben.

Für die merkwürdige Erscheinung, dass der chemisch homogene Stärkekörper der vollständigen Verzuckerung widersteht, hat man verschiedene Erklärungen gegeben. Mehrere Gelehrte haben nach Payen[1]) angenommen, dass die Ansammlung von Zucker in einer Lösung die Wirkung der Diastase hemmt und endlich völlig aufhebt. Musculus[2]) dagegen führt die begrenzte Verzuckerbarkeit auf Bildung von Dextrinen zurück, die durch Diastase nicht angegriffen werden können. Kjeldahl[3]) gelang es in der Tat, ein solches Achroodextrin zu isolieren, und entschied damit die Controverse zwischen Payen und Musculus zu Gunsten des letzteren.

Nun haben neuerdings Maquenne und Roux, Fernbach und Wolff Theorien über die Zusammensetzung und Verzuckerung der Stärke aufgestellt und experimentell zu begründen versucht, welche von den bisherigen Anschauungen in vieler Beziehung vollständig abweichen. Die hauptsächlichen Ergebnisse dieser Forschungen sind folgende:

Die Stärke ist danach chemisch nicht homogen, besteht vielmehr aus einem Gemenge zweier Substanzen, die wesentlich von einander verschieden sind, aus der Amylose und dem Amylopectin.

Die Amylose sei identisch mit der Amylocellulose der älteren Forscher, welche davon 3—4% in der Stärke fanden, während in Wirklichkeit mindestens $^4/_5$ der gesamten Stärkesubstanz aus diesem Körper bestehe. Sie setze sich zusammen aus einem komplexen Gemenge verschiedener Condensationsstufen, die sich durch ihre Löslichkeit in Wasser von verschiedenen Temperaturen unterscheiden. „Lösliche Stärken“ seien Abarten von Amylosen und bestehen aus den unteren Stufen dieser Reihe. Die Amylose sei der jodbläuende Bestandteil der Stärke, auch kommen ihr angeblich alle mikroskopischen Beschaffenheiten derselben zu.

Die gereinigte Amylose werde durch Diastase quantitativ in Maltose übergeführt, ohne nachweisbare Zwischenbildung von Dextrinen und ohne vorausgehende Kleisterbildung.

Die Fähigkeit der natürlichen Stärke, beim Erhitzen mit Wasser Kleister zu bilden, wird der darin enthaltenen zweiten Substanz, dem Amylopectin zugeschrieben, einem gelatinösen Körper, der sich mit Jod nicht blau färbt und dessen Spaltungsprodukte beim diastatischen Stärkeabbau die Dextrine sein sollen, auf deren Anwesenheit die älteren Forscher die unvollständige Verzuckerbarkeit der Stärke zurückführten.

---

[1]) Ann. chim. phys. (4). IV. 286, Jahresbericht der Chemie 1865. S. 597.
[2]) Compt. rend. 86. 1459; Zeitschr. physiol Chemie 2. 177.
[3]) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen 1880. 49.

Die französischen Forscher beschreiben Methoden, nach welchen sie die Amylose, also die eigentliche Stärkesubstanz vom Amylopectin trennten und reinigten. Letzteres dagegen konnte nicht isoliert werden, weil der Stärkekleister nicht filtrierbar ist, sich nicht centrifugieren lässt und weil die auf ihn wirkenden Reagentien ihn sofort verflüssigen, d. h. das Amylopectin in eine Form überführen, in der es von der Amylose nicht mehr getrennt werden kann.

Bei der Darstellung der Amylose gingen Maquenne und Roux[1]) von der Annahme aus, dass dieser an sich unlösliche Körper im Stärkekorn sich in einer besonderen Form vorfinde, die es ihm gestattet, beim Erhitzen mit Wasser, d. h. bei Herstellung des Kleisters vollkommen in Lösung zu gehen.

Beim Stehenlassen des Kleisters erfolge sodann eine „Rückbildung" der gelösten Amylose zum unlöslichen Zustande, durch welchen das rohe Stärkekorn ausgezeichnet ist. — Danach wurden seitens dieser Forscher die Ausscheidungen gesammelt, welche sich bei Aufbewahrung von Kleistern bei verschiedenen Temperaturen und Concentrationen bildeten und dieselben sodann durch Wiederlösen unter Druck und darauffolgendes Abkühlen der Lösungen einer fortgesetzten Reinigung unterzogen. Das so gewonnene Produkt, welches dieselben äusseren Eigenschaften wie die ursprüngliche Stärke besitzen soll, wurde mit Amylose bezeichnet.

Fernbach und Wolff[2]) erhielten reine Amylose durch Koagulation von Stärkekleister mittels geringer Mengen Malzauszugs. Sie beobachteten hiebei, wie schon nach kurzer Zeit eine Ausscheidung der Amylose erfolgt, während gleichzeitig durch die Wirkung des Malzenzyms das Amylopectin verflüssigt wird.

Die auf solche Weise durch Rückbildung oder Koagulation gewonnene Amylose erklären die französischen Forscher für identisch mit der Amylocellulose früherer Beobachter.

Nun aber machen Brown und Héron[3]) über die Resultate der früheren Forschungen folgende Angabe: Der Gegenwart der schützenden Cellulosehülle ist es zuzuschreiben, dass kaltes Wasser auf die Stärkekörner absolut keinen Einfluss ausübt. Zerreist man jedoch durch Zerreiben die äussere Hülle der Körnchen, so schwillt die Innensubstanz (Granulose), welche in hohem Grade Wasser zu absorbieren vermag, stark an und eine kleine Menge Substanz, die alle Eigenschaften der löslichen Stärke besitzt, geht in Lösung. Durch wiederholte Behandlung mit kaltem Wasser lässt sich aus den zertrümmerten Stärkekörnern der grösste Teil der Granulose ent-

[1]) Compt. rend. 1905. 15. Mai; vgl. Wochenschr. f. Brauerei 1905. S. 320.
[2]) Compt. rend. 1904. S. 95; vgl. Wochenschr. f. Brauerei 1905. S. 115.
[3]) Ann. 199. 189.

fernen, während die Hauptmenge der Cellulose in Gestalt dünner Schichten zurückbleibt. Die Stärkecellulose färbt sich mit Jodlösung nur schmutziggelb, im Gegensatz zur Granulose, deren Lösung tiefblau gefärbt wird.

Aus dieser Beschreibung erhellt unmittelbar, dass die Amylose keine Eigenschaft mit der Stärkecellulose gemeinsam hat, wohl aber viele Analogien mit der Granulose aufweist, sowohl in den Löslichkeitsverhältnissen wie in der Jodfärbung.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich in der Hauptsache mit der Frage, wie sich die Resultate der neuen Stärkeforschungen gegenüber den Anschauungen der früheren Beobachter verhalten.

Zunächst wurden Versuche angestellt, ob in der Tat die Verzuckerung der Amylose ohne Zwischenbildung von Dextrinen erfolgt. Lintner und Düll[1]) haben beim Abbau der Stärke mittels Oxalsäure ein schwerlösliches, sphärisch krystallisierendes Erythrodextrin erhalten, dessen Eigenschaften auf eine nahe Verwandtschaft zu der Amylose der franz Forscher schliessen lassen, welches deshalb als Ausgangsmaterial für die betreffenden Untersuchungen gewählt wurde. Genanntes Dextrin wurde von Lintner mit Erythrodextrin IIα bezeichnet und damit seine Stellung unter den Stärkeabbauprodukten gegenüber dem höher molekularen Erythrodextrin I und dem isomeren Erythrodextrin IIβ festgelegt. Dasselbe Produkt isolierte später Henderson[2]) auf diastatischem Wege, ohne dasselbe näher zu beschreiben. Auch das Amylodextrin von Art. Meyer[3]) dürfte mit dem Erythrodextrin IIα identisch sein; vgl. S. 15.

Durch untenstehende Versuche sollten die betreffenden Lücken ausgefüllt und ermittelt werden, welche Beziehungen zwischen dem Erythrodextrin IIα und der Amylose bestehen, wobei hauptsächlich das Verhalten dieses Körpers bei diastatischer Verzuckerung zu berücksichtigen war. Im weiteren Verlauf der Versuche sollten über die Natur der Amylose und über die Erscheinungen der Rückbildung und Koagulation der Stärke einige neue Aufschlüsse gebracht werden.

Darstellung von Erythrodextrin IIα aus löslicher Stärke.

Wie bereits erwähnt, ist das besondere Merkmal des genannten Erythrodextrins seine Schwerlöslichkeit in kaltem Wasser.

Während bisher die Darstellung bezw. die Reinigung von anderen Dextrinen durch fractionierte Fällungen der Dextrinlösung mit Alkohol-

---

[1]) Ber. XXVIII. 1523.

[2]) Inaug. Dissert. München 1897.

[3]) Artur Meyer, Stärkekörner S. 33.

wassermischungen von bestimmter Concentration erfolgte, vollzog Verf. die Reinigung des Produktes auf Grund dessen Schwerlöslichkeit durch stetig wiederholtes „Umkrystallisieren“ aus wässeriger Lösung. Dabei war hauptsächlich der Umstand massgebend, dass eine Isolierung anderer Dextrine nicht erforderlich war, welche sich nur mit Hilfe von Alkoholfällungen bewerkstelligen liesse.

Zur Darstellung des Erythrodextrins II$_\alpha$ wurde von löslicher Stärke (nach Lintner) ausgegangen. Unter löslichen Stärken verstehen die französischen Forscher, wie bereits angeführt, gewisse Abarten von Amylosen, welche die Eigenschaft der Kleisterbildung nicht mehr besitzen, demnach auch mehr oder weniger frei von Amylopectin sind, welches sie für die Muttersubstanz der Dextrine ansehen. Es wurde also gewöhnliche Kartoffelstärke acht Tage lang mit 7 ½% iger Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen und die gebildete lösliche Stärke so oft mit Brunnen-, später mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis die Waschwasser keine Spur Säure mehr enthielten. 3,25 kg lösliche Stärke wurden in dieser Weise bereitet.

Versuch I.

Henderson empfiehlt für Herstellung seines Dextrins folgenden Weg: 50 g lösliche Stärke, 100 ccm Wasser und 20 ccm Malzauszug (aus 50 g Luftmalz u. 200 g Wasser) werden innig gemischt und in 200 ccm kochendes Wasser gegossen. Die Lösung wird dann schnell zum Kochen erhitzt, auf 17,5° abgekühlt und 300 ccm 95% iger Alkohol langsam zugesetzt. Der Niederschlag (viel Amylodextrin, wenig Erythrodextrin) wird abfiltriert, das Filtrat zur Syrupconsistenz eingedampft und der Kristallisation in der Kälte überlassen.

Nach dieser Vorschrift wurden mehrere Versuche angestellt und in der Tat Ausscheidungen erhalten. Dieselben waren jedoch nur sehr gering und wechselnd in der Quantität, weshalb es geboten schien, Bedingungen aufzufinden, unter denen man grössere Ausbeuten des Rohproduktes in gleichmässiger Weise zu erhalten vermag.

Es war dabei auf folgende Punkte Rücksicht zu nehmen:

1. Bereitung der Stärkelösung,
2. Herstellung eines diastatischen Auszugs, von möglichst gleichbleibender fermentativer Wirksamkeit,
3. Art und Weise des Zusatzes desselben zu der Stärkelösung,
4. Verlässige Prüfung des Fortschreitens der Hydrolyse mittels Jodlösung.

Diese Daten mussten zunächst an einer Reihe von Versuchen festgestellt werden, um bei wiederholten Verzuckerungen genau in gleicher Weise verfahren zu können.

Durch weitere Versuche war sodann der Punkt zu fixieren, bis zu welchem in der Hydrolyse fortgeschritten sein darf, ferner war die günstigste zur Fällung dienende Alkoholmenge zu bestimmen.

Bereitung der Stärkelösung.

Die Stärkelösung wurde zu allen Vorversuchen derart bereitet, dass 50 g lösliche Stärke mit 100 ccm Wasser aufgeschlämmt wurden, worauf die milchige Flüssigkeit langsam und unter Umrühren in 200 ccm kochendes Wasser gegossen wurde. Die Stärkelösung war stets klar bis auf eine schwache Opalescenz; sie wurde in einem Nickelbecher von 0,5 Liter Inhalt bereitet, welcher dann in einem Wasserbad mit Thermoregulator konstant auf der Temperatur von 70° gehalten wurde. Diese Temperatur liegt über dem Optimum der diastatischen Wirksamkeit (55—63°) und wenig unterhalb der Grenze derselben, ist deshalb günstig sowohl für eine langsame Hydrolyse, als auch für rasche Unterbrechung des Versuchs durch Aufkochen.

Bereitung des diastatischen Auszugs.

Anfänglich wurden Auszüge aus hellem Malz, aus alkoholextrahiertem Malz und aus Solafarin, einem diastasereichen Weizenmehl der Tetosinwerke, Berlin verwendet. Diese Extracte unterliegen jedoch selbst bei gewöhnlichen Temperaturverhältnissen einer beständigen Veränderung bez. der Wirksamkeit, des Kupferoxydreduktionsvermögens und der optischen Tätigkeit. In dem Diastasepräparat „Diastase absolutus“ der Firma E. Merck, Darmstadt wurde ein Mittel gefunden, welches sich für begrenzte Stärkeverwandlungsprozesse eignet. Die Fermentativkraft des Präparates wurde kurz nach der Bereitung zu F = 1250 (nach Lintner) gefunden, (0,2 ccm Diast Lösung, 1 : 500 red. 5 ccm Fehling'sche Lösung), nach zweitägigem Aufbewahren war dieselbe unverändert. Ausserdem ist eine 1 %ige Lösung des Präparates optisch vollkommen inaktiv und reduziert Fehling'sche Lösung nur in verschwindendem Masse. Zur Herstellung der Lösung wurde jeweils 1,0 g Diastase in der Reibschale mit ca. 5 ccm Wasser zu einem Brei verrieben, derselbe in einen 100 ccm Messkolben gespült, zur Marke ausgefüllt, sodann blank filtriert. Es bleibt ein geringer Rückstand auf dem Filter zurück.

Zusatz der Diastaselösung zu der Lösung der Stärke.

Es schien ratsam, die zur Hydrolyse erforderliche Menge Malzenzym nicht in einer Portion und auf einmal zuzusetzen, weil auf diese Weise der Abbau so schnell erfolgt, dass eine Kontrolle unsicher ist. Die diastatische Lösung wurde deshalb aus einer Bürette in die auf 70° gehaltene Stärkelösung unter Umrühren fliessen

gelassen, so zwar, dass in je fünf Minuten 5 ccm verbraucht wurden. Auf diese Weise lässt sich das Fortschreiten der Verzuckerung mittels Jodprobe gut verfolgen.

Jodprobe.

Die Jodlösung enthielt in 250 ccm Wasser 1 g Jod und 2 g Jodkalium. Die Probe wurde derart ausgeführt, dass in einem Reagenzglas 3 Tropfen des Verzuckerungsgemischs mit 10 ccm Wasser verdünnt wurden. Hierauf wurde tropfenweise Jodlösung zugesetzt, bis das vorhandene Amylodextrin damit gesättigt war und die blaue Farbe in violett umzuschlagen begann. Die Flüssigkeit wurde nun bis auf einen Rest von etwa 1 ccm ausgegossen, wieder auf 10 ccm verdünnt, Jodlösung zugesetzt und die Färbung beobachtet. Bei Gegenwart von Erythrodextrin musste jetzt der rote Farbenton zum Vorschein kommen. Die Jodprüfung muss am Tageslicht ausgeführt werden, da bei künstlichem Licht eine richtige Beurteilung der Farbenreaktion nicht gut möglich ist.

Versuch II.

Unter Einhaltung der angeführten Versuchsbedingungen wurden 50 g lösliche Stärke mit 40 ccm Diastaselösung innerhalb 40 Minuten soweit abgebaut, dass mittels Jodlösung erst eine blaue, dann eine ebenso starke braunrote Reaktion erzielt wurde. Ohne weiteren Zusatz von Malzenzym wurde das Gemisch nun bei 70° stehen gelassen, bis nach Ablauf von 55 Minuten die Blaufärbung des Amylodextrins fast verschwunden war. Dann wurde die Wirkung der Diastase durch rasches Aufkochen unterbrochen. Durch Fällung der erkalteten Flüssigkeit mit 300 ccm 95% Alkohol, wurde ein Niederschlag von feinflockiger Beschaffenheit erhalten, der sich leicht filtrieren liess. Das Filtrat reagierte mit Jodlösung rein braunrot; der Rest des Amylodextrins war im Niederschlag enthalten, dessen Lösung jedoch ebenfalls vorwiegend braunrote Reaktion ergab. Die Lösung des Niederschlags und das Filtrat wurden auf dem Wasserbade eingedampft, bis sich auf der Oberfläche der konzentrierten Flüssigkeit eine Haut bildete. Die Syrupe wurden sodann in der Kälte aufbewahrt. Dabei trat keine Ausscheidung ein, vielmehr erstarrten die beiden Syrupe innerhalb 16 Stunden salbenförmig. Die Proben wurden deshalb wieder in Lösung gebracht und nach Verdünnung auf das 1 ½ fache bezw. doppelte Volumen abermals der „Krystallisation“ in der Kälte überlassen. Es gelang jedoch in keinem Falle, zwei Produkte von verschiedener Löslichkeit in den Syrupen zu trennen, es erfolgte bei stärkerer Verdünnung überhaupt keine Ausscheidung, bei höherer Konzentration dagegen ein gleichmässiges gelatinöses Erstarren der ganzen Flüssigkeit.

Der Versuch beweist, dass die Spaltung des gesuchten „krystallisierenden Dextrins“ sehr schnell vor sich geht und dass dasselbe aus Lösungen, die ausschliesslich rote Jodreaktion geben, nicht mehr gewonnen werden kann.

Versuch III.

Die Einwirkungsdauer der Diastase wurde diesmal vermindert. Der Versuch wurde wie der vorhergehende angestellt, jedoch nach 40 Minuten unterbrochen. Der Alkoholzusatz blieb unverändert. Aus dem Filtrat schied sich über Nacht ein schmieriger Bodensatz ab, der auf ein Filter gebracht, mit eiskaltem Wasser ausgewaschen und zwecks weiterer Reinigung wieder gelöst wurde. Die Menge des in dieser Lösung befindlichen Produktes wurde mittels Saccharometer ermittelt und war ca. 14,5 g.

Da aus dem Niederschlag abermals keine Ausscheidung erhalten wurde, wurde derselbe nochmals aufgelöst und bei 70° mit Diastaselösung so weit abgebaut, bis neben der blau-violetten eine etwa gleich starke braunrote Jodreaktion zu erkennen war. Die Lösung wurde mit demselben Volumen Alkohol, welches sie selbst einnahm, gefällt und es gelang in der Tat, eine zweite Krystallmasse zu isolieren, deren Menge etwa 5 g betrug. Insgesamt betrug die Menge des so isolierten Produktes also ca. 39 % der angewandten Stärke.

Versuche, mit der Hydrolyse der Stärke noch weniger weit fortzuschreiten, führten zu keinem günstigen Ergebnis, auch die zur Fällung zu verwendende Alkoholmenge scheint nicht weiter eingeschränkt werden zu dürfen, wie aus folgender Ermittlung hervorgeht:

In sechs Reagierzylinder wurden je 10 ccm partiell hydrolysierter Stärkelösung abgemessen. Rohr 1 erhielt einen Zusatz von 2 ccm Alkohol, jedes folgende Rohr 2 ccm mehr als das vorhergehende. Die Röhrchen wurden durchgeschüttelt, der Inhalt sodann filtriert, das Filtrat auf Uhrgläsern zur Syrupkonsistenz eingedampft und in der Kälte stehen gelassen. Rohr 5, welches einen Zusatz von 10 ccm Alkohol erhalten hatte, verhielt sich, sowohl, was leichte Filtrierbarkeit, als auch, was die Quantität des aus dem Filtrate krystallinisch abgeschiedenen Produktes anlangt, am günstigsten. Es wurde deshalb bei der Vorschrift Hendersons[1]) verblieben und dasselbe Volumen 95 %igen Alkohols zur Fällung verwendet, welches die zu fällende Flüssigkeit selbst einnahm.

Versuch IV.

Der Grund, weshalb man über eine erstmalige Trennung der bei der Verzuckerung gebildeten Abbauprodukte mittels grösserer

---

[1]) Inaug. Diss. München 1897, S. 16.

Mengen Alkohols nicht hinwegkommt, wenn man das gesuchte Dextrin erhalten will, ist höchst wahrscheinlich darin zu suchen, dass sich die verschiedenen, beim Abbau gebildeten Dextrine gegenseitig in der Krystallisation beeinflussen. Diese Ansicht wird bestätigt, wenn man versucht, die Alkoholfällung ganz zu umgehen:

50 g lösliche Stärke wurden bis zu dem für die Erythrodextrinbildung günstigsten Punkt verzuckert, die Flüssigkeit sodann in einer Schale zur völligen Trockene eingedampft und die harte, krustige Masse fein gepulvert. Nun wurde, in der Absicht, die leichter löslichen Dextrine zu entfernen, das Pulver mit Wasser überschichtet und, da sich in der Kälte nichts lösen wollte, bei 30° eine Stunde stehen gelassen. Die Lösung wurde dekantiert und der Prozess noch einigemale wiederholt. Dabei musste mit der Temperatur, um weitere Mengen gelöst zu bekommen, noch weiter in die Höhe gegangen werden. Die Abgüsse wurden bez. ihrer optischen Tätigkeit untersucht, dieselbe schwankte zwisch. $[\alpha]_D = 174 - 176$, der bei 100° wieder gelöste Rückstand ergab dasselbe Drehungsvermögen. Es ist daher auf diese Weise nicht möglich, verschiedenartige Produkte von einander zu trennen; wie bei der Krystallisation so findet auch bei dem Versuche fraktionierter Lösung eine gegenseitige Beeinflussung der Produkte statt. Nach Beendigung der Vorversuche konnte mit der Darstellung des Erythrodextrins in grösseren Mengen begonnen werden.

Es wurden immer 200 g lösliche Stärke auf einmal verarbeitet. Dieselben wurden mit 400 g Wasser aufgeschlämmt und unter stetem Umrühren in 800 g kochendes Wasser langsam eingegossen, um das Anbrennen der Stärke zu vermeiden. Die Stärkelösung wurde auf 70° abgekühlt und bei genauer Einhaltung dieser Temperatur innerhalb 40 Minuten mit 160 ccm Diastaselösung (Merck 1 : 100) versetzt. Der Abbau vollzog sich jedesmal in gleicher Weise, die spezif. Drehung der Lösung schwankte zwischen $[\alpha]_D = 175-180°$. Die Ausführung des Versuchs erfolgte in Nickelschalen. Nach 40 Minuten wurde aufgekocht, wieder unter stetem Umrühren, alsdann möglichst rasch auf 15° abgekühlt und sofort mit der Alkoholfällung begonnen, weil anders die anfangs klare Lösung sich leicht trübt.

Zur Fällung wurden verwendet 1200 ccm 95%igen Alkohols Derselbe wurde in feinem, regelmässigem Strahle unter starkem Umrühren in die Lösung gegossen und so ein feinflockiger Niederschlag erhalten, der sich leicht und fast klar filtrieren liess Verfährt man bei der Fällung nicht vorsichtig, so entsteht ein Dextrinklumpen von klebriger Beschaffenheit und die Flüssigkeit geht schlecht durchs Filter.

2200 g Stärke wurden dergestalt verarbeitet. Die Filtrate, welche die Hauptmenge des Dextrins enthielten, wurden zusammen eingedampft zu einem Syrup von einer Saccharometeranzeige ca. 20° Balling. (Auf Verarbeitung der Niederschläge wurde verzichtet,

da die Verwendung grosser Mengen Alkohols angesichts der zu erwartenden geringen Ausbeute unrationell erschien, vgl. S. 10).

Bei Winterkälte schied sich aus dem gelb-braunen Syrup eine reichliche Menge rein weissen Krystallschlamms ab. Nach Abheben der überstehenden Flüssigkeit wurde derselbe, um die Hauptmenge der leicht löslichen Dextrine und der Maltose zu entfernen, solange durch Aufschlämmen mit Wasser und Absetzen lassen ausgewaschen, bis die anfangs gelblichen Waschwasser farblos erschienen. Aus den eingedampften Waschwassern wurde noch eine zweite Krystallfraktion gewonnen. Erste Ausbeute ca. 460 g.

Reinigung des Dextrins.

Die weitere Reinigung des abgeschiedenen Produktes wurde durch Wiederauflösen desselben in möglichst wenig heissem Wasser, worin dasselbe klar löslich war, und Stehenlassen der Lösung in der Kälte fortgesetzt. Dieser Vorgang wurde mit der erhaltenen Krystallmasse so oft wiederholt, bis das Reduktions- und Drehungsvermögen derselben bei mehreren aufeinander folgenden fraktionierten Krystallisationen konstant blieb. Während die Ausscheidung im Anfang langsam und nur bei niederen Temperaturen erfolgte, geschah dies bei den späteren Fraktionen innerhalb weniger Stunden bei 15°. Hand in Hand mit der fortschreitenden Reinigung ging ferner eine beständige Abnahme des Extraktgehaltes der über der abgeschiedenen Krystallmasse zurückbleibenden Flüssigkeit. Derselbe betrug anfangs 12% (Balling), am Ende der Reinigung blieben nur Bruchteile eines Prozentes von der Substanz in Lösung. Dieselbe war ebenso wie die Lösung des reinen Dextrins vollkommen farblos und kaum opalisierend.

Drehungs- und Reduktionsvermögen während der Reinigung.

Im ganzen wurde die Hauptmenge des schwerlöslichen Dextrins 46 mal der fraktionierten Krystallisation unterworfen. Dabei stieg das Drehungsvermögen rasch auf etwa 193, und dann langsam weiter, um bei 196 konstant zu bleiben. Das Reduktionsvermögen fiel während der Reinigung sehr langsam von 15,7 auf 6,2, und erlitt während sechs aufeinander folgender weiterer Fraktionierungen keine wesentliche Veränderung.

Fraktion	Reduktion	$[\alpha]_D$
1	15.7	181.0
2	13.7	184.4
3	13.1	185.2
10	10.2	192.7
18	8.6	193.0
25	8.0	194.6
30	7.5	196.4
40—46 Mittel	6.2	195.9

Über die Reduktionsbestimmung vgl. S. 16, unten.

Die Ausbeute an völlig reinem Material betrug aus den ersten Fraktionen 115 g, entsprechend 5,23% der angewendeten Stärke. Aus den gesammelten Mutterlaugen und Waschwassern wurden noch ca. 30 g gewonnen. Das Aussehen des lufttrockenen Produktes unterschied sich makroskopisch in nichts von Stärkemehl.

Untersuchung des Dextrins.

Verhalten gegen polarisiertes Licht und Fehling'sche Lösung s. S. 16 ff.

Mikroskopische Untersuchung.

Die bei 600 facher Vergrösserung betrachteten Sphärokrystalle waren meist krustenförmig zusammenhängend. Beobachtet wurden einzelne Nadeln, meist jedoch winzige runde Kryställchen mit einem zentralen Punkt, von welchem aus Kanäle an die Peripherie führten. Auffallend war die gleichmässige Grösse dieser Scheibchen. Mit Jodlösung gefärbt erschienen die Krystalle weinrot. Unter dem Polarisationsmikroskop konnte zwischen gekreuzten Nikols ein optisches Kreuz nicht beobachtet werden, wahrscheinlich wegen der geringen Grösse der Kryställchen. Letztere zeigten indessen deutlich die Erscheinung der Doppelbrechung.

Löslichkeit.

Das Dextrin ist in kaltem Wasser sehr wenig löslich. In kochendem Wasser löst es sich klar auf; beim Abkühlen auf 20° entsteht bereits nach einigen Minuten eine schwache Trübung, worauf sich das Produkt langsam wieder abscheidet.

10 g Dextrin wurden in einem Messkolben mit 100 ccm Wasser versetzt, gut gemischt, bei verschiedenen Temperaturen längere Zeit gehalten und jeweils die Trockensubstanz des Filtrates durch Eindampfen von je 10 ccm auf Uhrgläsern und Trocknen im Vacuum bei 98° bestimmt. (Das Volumen der Flüssigkeit im Messkolben wurde immer wieder auf 100 ccm ergänzt).

10 ccm des Filtrates enthielten Trockensubstanz:

Bei 15°	0,0152 g
„ 30°	0,2040 g
„ 45°	0,5407 g

Bei 55° begann die Löslichkeit sehr stark zu steigen, bei 70° war bis auf eine Trübung, die erst beim Kochen verschwindet, in kurzer Zeit alles gelöst.

Verhalten gegen Jodlösung.

Eine Lösung des Dextrins 1 : 1000 wird schon bei Zusatz der ersten Tropfen Jodlösung rotbraun gefärbt. In stärkerer Verdünnung

ist der Farbenton anfangs rotviolett, um bald in rotbraun überzugehen. Bei Gegenwart von Schwefelsäure tritt bei Zusatz von Jodlösung zu einer konzentrierten Dextrinlösung eine rein blaue Reaktion ein. (Reaktion nach Lintner und Düll B. 28 1523.)

Wassergehalt.

Als Mittel von zwei Bestimmungen wurde für die lufttrockene Substanz berechnet ein Wassergehalt von 17,98%.

Asche.

1,7210 g Substanz wurden in der Platinschale verascht, der Rückstand betrug:

0,0008 g, der Aschegehalt somit 0,05%.

Osazon des Dextrins.

2 g reines Phenylhydrazin
2 g 50%ige Essigsäure
20 ccm 5%ige Dextrinlösung

wurden zwei Stunden am Rückflusskühler erhitzt, sodann das gebildete Osazon mit Alkohol als Pulver von gelber Farbe gefällt. Dasselbe war in Wasser und verdünntem Alkohol sehr leicht löslich, konnte aber nicht krystallisiert erhalten werden. Durch wiederholtes Fällen mit Alkohol wurde das Osazon von Phenylhydrazin befreit. Wiederholte Schmelzpunktbestimmungen gaben leider schwankende Resultate.

Verhalten

gegen Alkalien, Barytwasser, Bleiessig, Tanninlösung.

In Natronlauge ist das Dextrin ohne Rückstand klar löslich. Nach sorgfältigem Neutralisieren der Lösung mit Salzsäure beobachtet man eine Veränderung der Jodreaktion. Die Farbe bleibt rotviolett, der weinrote Ton tritt nicht mehr auf.

Durch Bleiessig und 1%ige Gerbsäurelösung wird aus der 5%igen Lösung des Erythrodextrins nichts gefällt, dagegen erzeugt Barytwasser einen voluminösen Niederschlag. (Stärkelösungen werden durch Bleiessig und Tanninlösung gefällt.)

Aus den beschriebenen Eigenschaften geht hervor, dass wir in dem isolierten Erythrodextrin einen wohlcharakterisierbaren Körper von grosser Reinheit vor uns haben. Dieselbe ist verbürgt vor allem durch die Art der Darstellung und Reinigung, bei welcher ohne Rücksicht auf die grossen Verluste an Zeit und Material darnach gestrebt wurde, das schwerlösliche Produkt von leichter löslichen Beimengungen mittels fraktionierter Krystallisation völlig zu befreien, sodass bei mehrmaligem Umkrystallisieren die Bestimmung von Drehungs- und Reduktionsvermögen konstante Werte ergab.

Verglichen mit dem Säure-Erythrodextrin von Lintner und Düll[1]) und dem Dextrin von Henderson, ergibt sich folgendes Bild:

	Lintner u. Düll	Henderson	Neue Werte
Spec. Drehung	194	194.2	196.0
Reduktion	8—8,5	8.2	6.2

Lintner und Düll sind wahrscheinlich mit der Reinigung nicht weit genug fortgeschritten, Henderson setzte die Reinigung seines Produktes nur so lange fort, bis er Daten erhielt, die mit dem Säure-Erythrodextrin Lintners übereinstimmten.

Viele Analogien bestehen zwischen dem beschriebenen Erythrodextrin und den Amylodextrinen von Brown und Morris[2]) und A. Meyer[3]), welche diese Forscher nach Walter Nägeli's Methode durch jahrelange Einwirkung von verdünnter Schwefelsäure auf Stärke dargestellt haben. Das Verhalten der betreffenden Dextrine gegen Jodlösung und Barytwasser ist dasselbe wie beim Erythrodextrin, sie zeigen ferner ähnliche Krystallisationserscheinungen und Löslichkeitsverhältnisse.

Die geringen Abweichungen der physikalischen Konstanten dürften auf die keineswegs absolute Zuverlässigkeit der Untersuchungsmethoden zurückzuführen sein.

Amylodextrin (Meyer)	Erythrodextrin II$_\alpha$
$R_{(M)}$ 9.4[4])	6.2
$[\alpha]_D$ 193 4	196.0

A. Meyer nimmt an, dass das Amylodextrin bereits im natürlichen Stärkekorn in geringen Mengen enthalten ist,[5]) er schreibt diesem Körper ferner die Eigenschaft zu, sich mit Jod rot zu färben und bestreitet die Einheitlichkeit der Erythrodextrine, welche nach seiner Ansicht die rote Jodreaktion nur wegen eines Gehaltes an Amylodextrin geben.

Die Annahme, dass das Amylodextrin einen Teil der Stärkesubstanz bildet, ist, wenigstens für Kartoffelstärke, nicht zutreffend, denn es müsste jede Spur eines sich mit Jodlösung rot färbenden Körpers in Starkelösungen, die bekanntlich rein indigoblau mit Jod reagieren, nachweisbar sein. Ausserdem besitzt die Stärke nicht in geringstem Masse die Eigenschaft, Fehling'sche Lösung zu reduzieren, welche ihr bei einem Gehalt an Amylodextrin zukommen müsste.

Was die Nomenklatur anlangt, so lässt sich gegen die Berechtigung, Dextrine, welche sich mit Jod rot färben, Erythrodextrine zu bezeichnen, kein gültiger Einwand erheben, wenn man die vorher an-

[1]) Berichte XXVIII. 1523.
[2]) Journ. Chem Soc. July 1889, Ztschr. f. d. gesamte Brauwesen 1889.
[3]) Arthur Meyer, Untersuchungen über die Staerkekörner, S. 27.
[4]) Berechnet aus der Angabe $R_{[d]} = 6.6$.
[5]) A. Meyer, Stärkekörner S. 2.

geführten Tatsachen berücksichtigt. Dieselbe Benennung wurde deshalb auch für unser, sich mit Jodlösung braunrot färbendes Dextrin beibehalten.

Versuche über die Verzuckerung des Erythrodextrins IIα mittels Diastase.

Wir haben in dem Erythrodextrin IIα eine Substanz kennen gelernt, welche vollkommen frei ist von pectinösen oder gallertartigen Bestandteilen, einen Körper, welcher seinem ganzen Charakter nach nur Dextrin, aber dennoch unmöglich ein Spaltungsprodukt des von den französischen Forschern als Muttersubstanz der Dextrine angenommenen Amylopectins sein kann. Das Erythrodextrin IIα wäre vielmehr nach der neuen Theorie als Spaltungsprodukt der reinen Amylose aufzufassen, welcher genannte Forscher die Eigenschaft zuschreiben, bei der Verzuckerung vollständig und ohne Bildung von Zwischenprodukten in Maltose überzugehen. Wenn schon die reine Amylose diese Eigenschaft besitzt, so muss dieselbe in gleicher Weise auch ihren Spaltungsprodukten zukommen. In den folgenden Versuchen wurde deshalb festgestellt, wie weit die Verzuckerung des Erythrodextrins unter Einhaltung der günstigsten Bedingungen geführt werden kann.

Zur Bestimmung des Verlaufes der Hydrolyse dienten folgende Operationen.

Trockensubstanz-Bestimmung.

Der Gehalt der Versuchsflüssigkeit an fester Substanz wurde durch Abmessen von 10 ccm derselben und Eindampfen auf einem Uhrglas, erst auf dem Wasserbad, dann im Vacuumtrockenschrank bei 98° bis zur Gewichtskonstanz, festgestellt. Die Bestimmung mittels kleiner, Balling'scher Saccharometer gibt fast stets zu Fehlern Anlass. Vor dem Abmessen wurde die Flüssigkeit stets auf die Temperatur gebracht, für welche die zum Abmessen dienende Pipette geaicht war.

Spezifische Drehung.

Die Ermittlung des Polarisationswinkels erfolgte im Laurent'schen Halbschattenapparate. Es wurden meist 5%ige Lösungen im 200 mm Rohr polarisiert. Die nötige Durchsichtigkeit wurde in trüben Lösungen durch Filtrieren über gefällte Tonerde erzielt.

Reduktion.

Das Reduktionsvermögen wurde stets gravimetrisch bestimmt und auf Maltosetrockensubstanz mit Hilfe der Wein'schen Tabelle berechnet. $R_m = a$ bedeutet also: 100 g Trockensubstanz des Verzuckerungsgemisches vermögen dieselbe Menge Cu_2O aus Fehling'scher Lösung niederzuschlagen, wie a gramm Maltose.

Die eigentliche Verzuckerung wurde in 100 ccm Messkolben ausgeführt und zwar stets mit Lösungen, welche ungefähr 5 g Dextrin (Trocken-Substanz) enthielten. Nach Auflösung des Dextrins und Zusatz der Diastaselösung wurde zur Marke aufgefüllt und die Kolben im Wasserbad mit Thermoregulator auf konstanter Temperatur gehalten (zwischen 55—63° Optimum der Diastasewirkung). Als verzuckerndes Agens diente wieder das Diastasepräparat von E. Merck, nur in den beiden ersten Versuchen wurde mit einem Auszug von 25 g Luftmalz und 250 g Wasser gearbeitet.

Die einzelnen Reduktionsbestimmungen wurden mit je 5 ccm der Probelösung ausgeführt.

Verzuckerung I.

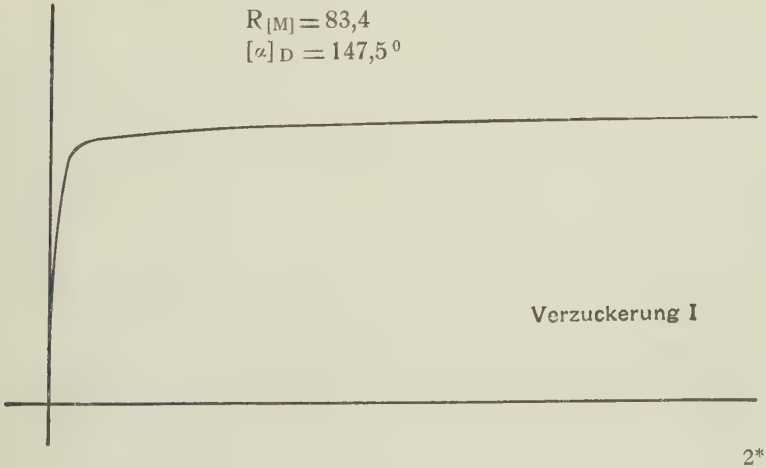
Minuten	Cu O	Cu	Maltose	Reduktion (%)
5	0,2280	0,1621	0,1423	56,9
10	0,2734	0,2180	0,1920	76,8
22	0,2817	0,2248	0,1982	79,28
35	0,2861	0,2285	0,2015	80,6
47	0,2874	0,2295	0,2026	81,04
60	0,2883	0,2304	0,2029	81,16
72	0,2891	0,2313	0,2040	81,60
85	0,2974	0,2357	0,2079	83,16
100	0,3008	0,2403	0,2124	84,96
280	0,3024	0,2416	0,2133	85,32
Stunden	Cu O	Cu	Maltose	Reduktion (%)
24	0,3037	0,2426	0,2141	85,64
48	0,3040	0,2428	0,2143	85,72
72	0,3037	0,2426	0,2141	85,64
96	0,3042	0,2430	0,2144	85,74

Spezifische Drehung nach völliger Verzuckerung $[\alpha]_D = 147^0$.

Ein Parallelversuch ergab am Ende der Verzuckerung:

$R_{[M]} = 83,4$

$[\alpha]_D = 147,5^0$



Verzuckerung II.

90 ccm Dextrinlösung
10 ccm Luftmalzauszug 1 : 10

wurden vermischt und verzuckert bei gewöhnlicher Temperatur (17—20°). (Verschwinden der Jodreaktion nach 22 Minuten.)

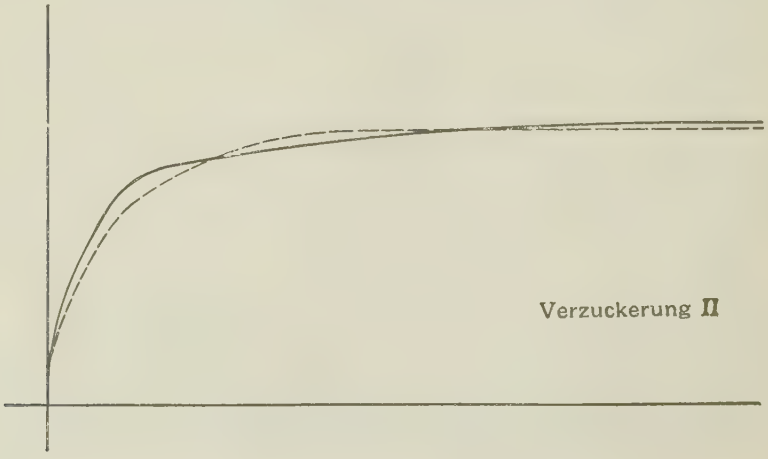
Trockensubstanz in 10 ccm 0,4994 g.

Zeit	Cu O (g)	Cu (g)	Maltose (g)	Reduktionsvermögen (%)
5 Minuten	0,1041	0,0833	0,0718	30,4
10 „	0,1348	0,1079	0,0936	37,5
25 „	0,1990	0,1592	0,1397	56,0
35 „	0,2309	0,1847	0,1624	65,1
45 „	0,2485	0,1988	0,1750	70,1
2 Stunden	0,2724	0,2179	0,1920	76,9
3 „	0,2903	0,2322	0,2049	82,2
24 „	0,2962	0,2370	0,2091	83,8
2 Tage	0,2940	0,2356	0,2080	83,4
6 „	0,2982	0,2385	0,2105	84,2
7 „	0,2998	0,2398	0,2116	84,6

Spez. Drehung nach Verzuckerung:

$[\alpha]_D = 145{,}5^0$.

Bei Anwendung von Malzauszug gelingt demnach keine vollständige Überführung des Dextrins in Maltose. Das Arbeiten beim Temperaturoptimum führt in 1—2 Stunden, das Arbeiten bei gewöhnlicher Temperatur erst nach 1—2 Tagen zu einem Maximum der Zuckerproduktion. Dieses ist in beiden Fällen fast das gleiche.



Verzuckerung III.

Statt des Malzauszuges wurde eine Lösung (1 : 100) gefällter Diastase verwendet, von der, weil ziemlich konzentriert, eine kräftigere verzuckernde Wirkung von vornherein zu erwarten war. Diese Wirkung kommt in dem rapiden Ansteigen der Verzuckerungskurve zum Ausdruck.

Verwendet wurden 10 ccm Diastaselösung,
90 ccm Dextrinlösung.

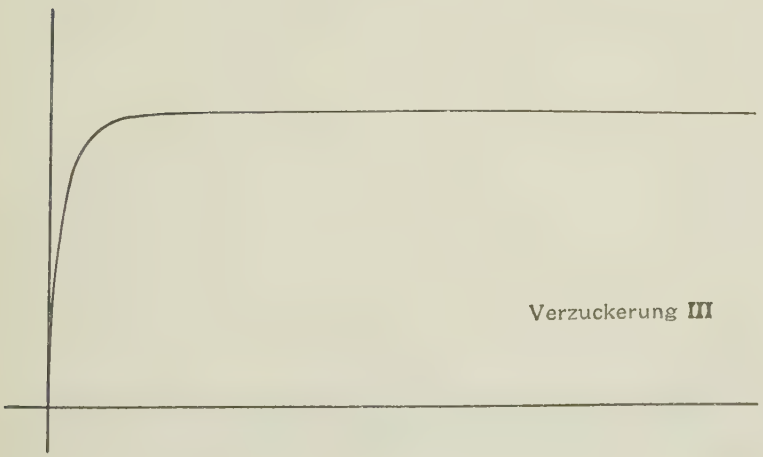
Trockensubstanz: 0,4960 g in 10 ccm (4,96 %).

Zeit	Cu O	Cu	Maltose	Reduktionsvermögen
10 Minuten	0,2478	0,1979	0,1742	70,2
18 „	0,2846	0,2293	0,2023	81,7
27 „	0,3073	0,2455	0,2168	87,4
1 Stunde	0,3093	0,2471	0,2181	88,0
3 „	0,3108	0,2483	0,2193	88,5
4 „	0,3113	0,2487	0,2197	88,6
27 „	0 3219	0,2572	0,2272	91,16
3 Tage	0,3191	0,2553	0,2256	91,10
5 „	0,3210	0,2568	0,2270	91,16
11 „	0,3226	0,2579	0,2280	91,9

Spezif. Drehung am Ende der Verzuckerung:

$[\alpha]_D = 142{,}9.$

Verzuckerungstemperatur 60°.



Verzuckerung IV.

Durch Anwendung eines grossen Überschusses von Diastase wurde der bei der vorhergehenden Verzuckerung erhaltene hohe Maltosewert noch zu steigern versucht.

Mischungsverhältnis:

80 ccm Dextrinlösung
20 ccm Diastaselösung

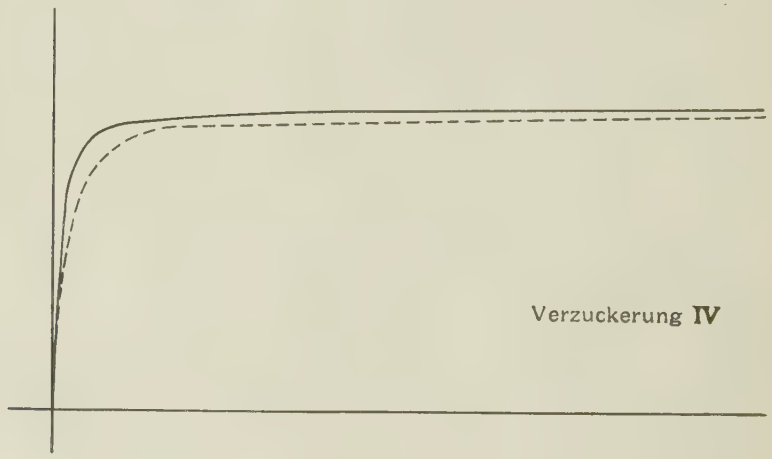
Trockensubstanz: 4,42%.

Zeit	Cu O	Cu	Maltose	Reduktion
5 Min.	0,2021	0,1614	0,1417	64,3
13 „	0,2612	0,2087	0,1839	79,3
20 „	0,2664	0,2129	0,1876	84,9
55 „	0,2718	0,2172	0,1914	86,7
2 Std.	0,2814	0,2251	0,1985	89,8
1½ Tage	0,2861	0,2289	0,2019	91,3
4 „	0,2882	0,2304	0,2033	91,9

$[\alpha]_D = 139{,}7^0$.

Verzuckerungstemperatur: 70°.

Der Rest der Probelösung wurde zur Osazonprobe verwendet. Es liesse sich nur Maltosazon, kein Dextrosazon nachweisen.



Ausser den beschriebenen Hydrolysen des Erythrodextrins deren Verlauf genau verfolgt wurde, gelangten einige weitere zur Ausführung, bei welchen nur das Endresultat ermittelt wurde.

Verzuckerung V.

Als Material diente eine Fraktion des Dextrins, welche noch nicht völlig rein war. Die Analyse der 5,07 % Lösung ergab vor der Verzuckerung:

$[\alpha]_D = 194{,}2$

$R_{[M]} = 6{,}54.$

Nach Verzuckerung mit 20 ccm Diastaselösung:

$[\alpha]_D = 140{,}4$

$R_{[M]} = 90{,}65.$

Eine Parallelprobe wurde mit Grünmalzauszug 1 : 10 (10 ccm) verzuckert. Nach 10 Tagen ergab sich:

$[\alpha]_D = 142{,}4$

$R_{[M]} = 87{,}2.$

Auf Zusatz von Alkohol zu der Probe nach beendigter Hydrolyse entstand ein flockiger Niederschlag, was die Annahme der Gegenwart von unverzuckerbaren Dextrinen bestätigt.

In den folgenden Versuchen sollte das Verzuckerungsresultat durch Anwendung von Malzauszügen begünstigt werden, deren Wirksamkeit nach dem Vorgange von Maquenne und Roux[1]) künstlich gesteigert worden war.

Die Steigerung kann nach Angabe dieser Forscher erfolgen durch längeres Aufbewahren des Malzauszugs unter aseptischen Bedingungen, d. h. auf dem Wege der „Selbstreizung" oder durch beschränkten Zusatz einer Säure. Der Höchstbetrag an Maltose soll durch einen Malzauszug geliefert werden, welcher mit $^3/_5$ derjenigen Säuremenge versetzt wurde, die zu seiner vollständigen Neutralisation gegen Methylorange genügen würde.

Zunächst wurde festgestellt, dass sich die Lösung des Erythrodextrins gegen Methylorange vollständig neutral verhält.

Zur Neutralisation von 50 ccm Malzauszug aus hellem Malz (1 : 10; $2\,^1/_2{}^h$ Extraktionszeit) waren erforderlich 5,8 ccm $\frac{n}{20}$ H_2SO_4.

Da die günstigste Reaktion bei Zusatz von $^3/_5$ dieser Säuremenge bewirkt werden soll, wurden weitere 50 ccm desselben Auszuges mit nur 3,5 ccm $\frac{n}{20}$ H_2SO_4 versetzt und zu folgenden Verzuckerungen verwendet:

a) 2 g Erythrodextrin und 5 ccm Malzauszug neutr.

b) 2 g Erythrodextrin und 10 ccm „

Ein anderer Teil des Malzauszuges wurde vergleichsweise ohne Neutralisation zu einer 2 %igen Dextrinlösung gegeben (c).

---

[1]) Compt. rend. 142. 124, Wochenschr. f. Brauerei 1906, S. 66, 400, 484.

Die Proben d und e wurden mit demselben Malzauszug verzuckert, nachdem derselbe acht Tage unter Toluolzusatz aufbewahrt worden war, die Proben f und g waren der Wirkung eines Auszuges ausgesetzt, der nach achttägiger Aufbewahrung auf die „günstigste Reaktion" gegen Methylorauge gebracht wurde. Die Proben d und f wurden mit je 5 ccm, die entsprechenden Parallelproben mit je 10 ccm der betreffenden Auszüge beschickt.

Sämtliche Verzuckerungen wurden in einem mit Wasser gefüllten Thermoregulator ausgeführt, dessen Temperatur auf 60° C eingestellt war.

Die Endproduktion an Maltose wurde bei den Proben c, d, f, g nach sieben Tagen, bei den Proben a, b, e nach acht Tagen bestimmt.

	a	b	c	d	e	f	g
Maltose in % der Trockensubstanz	90,4	91,1	86,7	88,2	88,0	92,7	93,9
Spez. Drehung	137,2	134,0	140,7	138,6	140,2	136,4	135,1

In diesen Versuchen wurden ebenso, wie in den vorangehenden hohe Verzuckerungswerte erreicht allein eine vollständige Überführung des Erythrodextrins in Maltose scheint auch unter den denkbar günstigsten Bedingungen unmöglich zu sein. Die höchste, überhaupt erzielte Maltoseziffer (93,9%) blieb noch 11% hinter der theoretischen zurück und wahrscheinlich ist dieser hohe Wert auf Gegenwart von Dextrose zurückzuführen, denn unter den Verzuckerungsprodukten konnten bei dieser Probe mittels Phenylhydrazin und Essigsäure Spuren von Dextrosazon nachgewiesen werden.

Das spezifische Drehungsvermögen der Maltose[1]) wurde nach beendigter Hydrolyse öfters erreicht, es sank sogar gelegentlich unter das der Maltose herab. Allein es wäre verkehrt, hieraus auf eine vollständige Verzuckerung schliessen zu wollen. Die im Vergleiche zum Reduktionsvermögen zu niedrigen Drehungswerte sind entweder auf die Gegenwart optisch inaktiver Substanzen im Malzauszug zurückzuführen, oder auf die Bildung geringer Dextrosemengen, welche sich mittels der Osazonprobe nicht nachweisen lassen. Für die erstere Annahme spricht vor allem die Tatsache, dass in vorliegenden Versuchen bei Anwendung von gefällter Diastase die spezifische Drehung der Maltose nie erreicht wurde, wenn gleichzeitig die Reduktion nur 90% betrug, während bei Anwendung von Malzauszug in diesem Fall die Drehung der Maltose erreicht bezw. überschritten war.

Die Bestimmung des Gehaltes an Maltose in der verzuckerten Flüssigkeit mittels Polarisation allein ist demnach unter allen Um-

[1]) 138.1 nach Brown und Heron, W. f. B. 1879.
139.1 „ Soxleth, Journ. f. pr. ch. 21. 276.

ständen unzuverlässig; die aus dem Drehungsvermögen berechneten Zuckerwerte sind stets zu hoch, was aus dem Vergleich mit der gewichtsanalytischen Maltosebestimmung unmittelbar hervorgeht.

Die französischen Forscher machen über die Art ihrer Zuckerbestimmung keine genauen Angaben. An einer Stelle[1]) bemerkt Fernbach wörtlich:

> „Zwischen den Angaben für den Maltosegehalt aus Reduktionsvermögen und Polarisation besteht kein merklicher Unterschied. Der kleine Überschuss am Ende der Verzuckerung, ermittelt durch Polarisation, entspricht genau der Menge des übrigbleibenden Dextrins".

Es trifft für unsere Untersuchungsmethoden nicht zu, dass zwischen den Maltosewerten aus Drehungsvermögen und Reduktion kein Unterschied besteht.

Da die französischen Forscher, wie auf Grund dieser Äusserung anzunehmen ist, vielfach die Maltose polarimetrisch bestimmten und stets mit frisch hergestelltem Malzauszug arbeiteten, welcher ein viel höheres Reduktionsvermögen wie Merck'sche Diastaselösung besitzt, ist hierin wohl ein Grund für die ausserordentlich hohen Verzuckerungswerte zu suchen, welche sie erreicht haben.

Wie wir gesehen haben, ist eine vollständige Verzuckerung des Erythrodextrins II_α mit Malzdiastase nicht möglich; selbst unter günstigsten Bedingungen erreicht die Einwirkung des Fermentes ein Ende, wenn 90% Maltose gebildet sind, so dass ein unverzuckerbarer Rest von ca. 15% des Dextrins zurückbleibt. Beim Arbeiten mit dem viel weniger wirksamen frischen Malzauszug bleiben ca. 20% unverzuckert Betrachtet man den Verlauf der Kurven, so sieht man beim Temperaturoptimum die Spaltung des Dextrins in zwei scharf getrennten Phasen verlaufen. Am Ende der ersten Phase (ca 20 Min.), in welcher die Zuckerproduktion rapid vorwärts schreitet, ist dieselbe bereits fast am Maximum angelangt, um von diesem Punkt ab innerhalb mehrerer Tage nur mehr um wenige Prozente anzusteigen. (Vgl. Verzuckerungen I, III und IV Seite 18, 19, 20.)

Arbeitet man dagegen bei Zimmertemperatur (17—20°) [Verzuckerung II, Seite 19], so beobachtet man ein viel sanfteres Ansteigen der Verzuckerungskurve und ein schroffer Übergang der beiden Phasen findet an keiner Stelle statt. Nach Verlauf von drei Stunden ist die Maltoseproduktion erst auf der Höhe angelangt, welche unter günstigen Bedingungen bereits nach 20—30 Minuten erreicht wurde.

Im Folgenden ist der Verlauf zweier Verzuckerungsprozesse angegeben, die mit löslicher Stärke in 5%iger Lösung unter Zusatz von

---

[1]) Compt. rend. 142. 1216, vgl. Wochenschr. f. Brauerei XXIII. S. 349.

je 20 ccm Diastaselösung auf 80 ccm Stärkelösung, einmal bei 20°, das andere mal bei 55° vorgenommen wurden.

Verzuckerung bei 20°		Verzuckerung bei 55°	
Zeit	% Maltose	Zeit	% Maltose
5 Min.	23,8	5 Min.	42,3
10 „	36,0	10 „	58,9
22 „	46,8	18 „	72,1
29 „	54,0	28 „	79,7
40 „	59,3	38 „	82,2
50 „	62,7	50 „	84,2
60 „	70,2	60 „	83,7?
2 Std.	80,6	2 Std.	85,6
3½ „	82,1	3 „	85,6
24 „	82,4	26 „	86,4
3 Tage	83,2	3 Tage	87,1
$[\alpha]_D = 144{,}2$		$[\alpha]_D = 142{,}3$	

Die diesen Resultaten entsprechenden Kurven wurden in die Felder der Verzuckerungskurven II und IV gestrichelt eingezeichnet.

Vergleicht man die Verzuckerungskurven des Erythrodextrins mit denen der löslichen Stärke, so wird man in deren Verlauf nur unwesentliche Unterschiede finden. Die Verzuckerungsgeschwindigkeit der löslichen Stärke scheint nur an der Grenze der beiden Phasen eine etwas geringere zu sein, ausserdem laufen die entsprechenden Kurven in geringer Entfernung von einander parallel bezw. decken sich vollständig. Die Endproduktion an Maltose ist bei der löslichen Stärke (unter gleichen Verzuckerungsbedingungen) fast dieselbe wie bei dem Erythrodextrin.

Durch diese Tatsache wird der Beweis geliefert, dass sich das Erythrodextrin II α im Verlauf der Verzuckerung verhält wie lösliche Stärke, und dass die Verzuckerbarkeit ebenso wie bei der Stärke nur eine begrenzte ist.

Es wurde bereits früher bewiesen, dass unser Dextrin — im Rahmen der Theorie der französischen Forscher — nur ein Spaltungsprodukt der reinen Amylose sein kann. Dadurch wurde bereits widerlegt, dass sich die Hydrolyse der reinen Amylose ohne Zwischenbildung von Dextrinen vollzieht. Das Erythrodextrin II α ist ein Beleg dafür, dass unter den Spaltungsprodukten der Amylose sehr wohl dextrinartige Körper isoliert werden können, wenn man mit der Verzuckerung sehr langsam fortschreitet.

Jetzt erleben wir ein gleiches bei dem Erythrodextrin selbst. Wenn man weit unterhalb des Temperaturoptimums Diastase auf diesen Körper einwirken lässt (bei 20°), so findet eine gleichmässige Degradation statt, in deren Verlauf neben Maltose bestimmte Mengen

von Zwischenprodukten gebildet werden, die ihrem ganzen Charakter nach nur niedrige molekulare Dextrine sein können. (Verschwinden der Jodfärbung, wenn R = 66—70 %).

Angenommen, das Erythrodextrin II α wäre wirklich ein Spaltungsprodukt der reinen Amylose, so dürfte dasselbe unter keinen Umständen unter Zwischenbildung von Dextrinen degradiert werden, wenn die Beobachtungen von Maquenne und Roux[1]), nach welchen die Verzuckerung der gereinigten Amylose eine augenblickliche ist,[2]) zu Grunde gelegt werden.

Es ergibt sich hier ein Widerspruch, der nur durch die Annahme gelöst werden kann, dass die Verzuckerungsgeschwindigkeit der Amylose in Wirklichkeit, gleichwie bei dem Erythrodextrin II α von den jeweiligen Verzuckerungsbedingungen abhängig ist. Den französischen Forschern ist diese Tatsache wahrscheinlich entgangen, weil sie ihre Verzuckerungen stets beim Optimum der Temperatur anstellten, andernfalls hätten dieselben bei vorsichtiger partieller Hydrolyse ihrer „Amylose" unbedingt auf Dextrine stossen müssen.

Bei günstigsten Temperaturverhältnissen wird auch das Erythrodextrin durch Diastase so schnell abgebaut, dass es nicht möglich sein dürfte, auf diesem Wege Zwischenprodukte mit Bestimmtheit nachweisen, geschweige denn isolieren zu können. Hierin zeigt aber die Muttersubstanz des Erythrodextrins, die lösliche Stärke ein ganz analoges Verhalten. Wir erkennen das auf der einen Seite aus dem Verlauf der Kurve IV, andererseits aus der Tatsache, dass das Erythrodextrin nur isoliert werden kann, wenn die Einwirkung der Diastase auf die lösliche Stärke künstlich verzögert wird.

All' diese Umstände sprechen dafür, dass wir in der Amylose der französischen Forscher keinen anderen Körper vor uns haben, als jenen Bestandteil der Stärke, welchen Nägeli mit Granulose bezeichnet hat und welchen die früheren Beobachter als Hauptbestandteil des Stärkekorns erkannt haben. (Vgl. S. 3.)

Die Ergebnisse der Untersuchungen über das beschriebene Erythrodextrin II α stehen im Einklang mit der alten Theorie, dass bei der Hydrolyse der Stärke und ihrer Spaltungsprodukte mittels Diastase gleichzeitig Dextrine und Zucker in einem variablen Verhältnis zu einander gebildet werden, welches sich im Laufe der Zeit — je nach den Bedingungen schneller oder langsamer — einem Punkte nähert, bei dem eine weitere Vermehrung des Zuckers auf Kosten der Dextrine nicht mehr eintritt.

Infolge des fast gleichförmigen Verlaufs der Verzuckerung des genannten Dextrins und der löslichen Stärke — also zweier Spaltungs-

---

[1]) Compt. rend. 143. 400, Wochenschr. f. Brauerei 1906, 484 ff.

[2]) Bildung von 94 % Zucker innerhalb 5 Minuten.

produkte der Amylose, welche sich nur durch die Stufe der Degradation unterscheiden —, wurde bereits der Schluss gezogen, dass von der Amylose selbst ein ähnliches Verhalten zu erwarten sei, obwohl dieselbe nach der neuen Theorie vollständig und ohne intermediäre Dextrinbildung in Maltose übergehen soll.

Im folgenden wurde deshalb der Versuch unternommen, reine Amylose darzustellen und zur Aufklärung ihrer Natur und ihres Verhaltens gegen Diastase einiges beizutragen.

Rückbildung und Koagulation des Stärkekleisters.

1. Lässt man Stärkekleister unter aseptischen Bedingungen längere Zeit stehen, so beobachtet man eine zunehmende Trübung des Kleisters, verbunden mit klumpenförmigen Ausscheidungen.

2. Versetzt man Stärkekleister oder Lösungen löslicher Stärke mit geringen Mengen diastatischen Auszugs, so beobachtet man die gleiche Erscheinung, welche jedoch sehr viel rascher, als bei dem ersten Vorgang erfolgt.

Beide Vorgänge sind wohl einfach darauf zurückzuführen, dass sich die Stärkesubstanz im Kleister im Zustand einer übersättigten Lösung befindet, aus der sie sich beim Abkühlen wieder abscheidet. Die kleistrige Beschaffenheit des Mediums verzögert die Abscheidung, welche fast unmittelbar erfolgt, wenn man durch Einwirkung geringer Malzmengen den gelatinösen Zustand aufhebt.

Wolff und Fernbach[1]) haben letztere Erscheinung „enzymatische Koagulation“ der Stärke bezeichnet und schreiben selbe der Amylokoagulase zu, einem Malzenzym, welches der Diastase entgegenarbeiten solle.

Maquenne[2]) benannte den anderen Vorgang: Rückbildung des Stärkekleisters.

Die nach beiden Vorgängen gewonnenen und gereinigten Produkte wurden schliesslich in ihrem Verhalten als fast identisch erkannt, man sprach sie als Amylose, d. h. als die eigentliche Stärkesubstanz an und stellte ihre angeblich restlose Umwandelbarkeit in Maltose fest.

Darstellung „koagulierter“ Stärke.

Zunächst wurden einige Vorversuche angestellt, um die Bedingungen festzulegen, bei deren Einhaltung eine möglichst gute Ausbeute erzielt wird:

---

[1]) Wochenschr. f. Brauerei **1903**, 594. **1905**, 115. (C. r. **140**, 95).

[2]) Compt. rend. **136**, 88. **137**, 797. **138**, 213. **140**, 440., vgl. Wochenschr. f. Brauerei **1903**, 417. **1904**, 86, 223. **1905**, 144, 320.

12 Reagierzylinder wurden mit je 10 ccm einer Lösung von löslicher Stärke (bereitet nach Lintner mittels 7½% iger H Cl) beschickt. Die Lösung hatte einen Gehalt von 4,12% Trockensubstanz. Die Röhrchen erhielten Zusätze von Gersten- bezw. Malzauszug in verschiedenen Quantitäten und nach verschiedenartiger Vorbehandlung. Es konnte auf diese Weise ermittelt werden, wie es gelingt, ein Maximum von Stärkesubstanz aus ihren Lösungen zur Ausscheidung zu bringen. Nach ca. sechsstündiger Einwirkung der Auszüge wurde der Inhalt der Gläschen filtriert und die Trockensubstanz in 5 ccm des Filtrates bestimmt.

Röhrchen	Beschickung (ccm)	% Trock. Subst. im Filtrat	Ausgeschiedenes in % der Trock. Stärke
1	ohne Zusatz	nicht filtrierbar	—
2	0,1 Gerstenauszug 1:10	„ „	—
3	0,3 „	„ „	—
4	0,5 „	„ „	—
5	0,1 Malzauszug (helles Malz 1:10)	2,831	31,3
6	0,2 „ „	2,950	28,4
7	0,5 „ „ [1])	3,043	26,3
8	0,1 „ (dunkles Malz 1:10)	3,262	20,8
9	0,2 „ „	3,372	19,2
10	0,1 Diastase Merck 1:500	3,101	24,8
11	0,2 „ „ 1:500	3,104	24,8

Mit Ausnahme der Röhrchen 1—4 trat bei sämtlichen Proben eine deutliche Trübung bereits nach ½ Stunde auf und verdichtete sich langsam zu einem feinflockigen Gerinsel, welches sich zu Boden setzte. Das Filtrat sämtlicher Proben blieb bei Zusatz von Jodlösung farblos. — Wie aus Versuch 5 hervorgeht, genügt der Zusatz eines Minimums von Malzauszug, um ca. ⅓ der vorhandenen Stärke aus ihrer Lösung zu fällen.

In grösseren Mengen wurde das ausscheidbare Produkt folgendermassen erhalten:

24 g lösliche Stärke wurden gelöst in 400 g Wasser und nach Erkalten 3 ccm Malzauszug (helles Malz 1:10) zugesetzt.

Der Gehalt der Lösung an fester Substanz betrug zu Beginn des Versuchs:	5,20%
Nach drei Tagen wurde von dem Koagulum abfiltriert; Trockensubstanzgehalt des Filtrates:	3.25%
Abgeschiedene Stärke aus 100 g Lsg.	1,95 g
„ „ „ 400 g „	7,3 g

Ausbeute: ca. 37,5% der Trockenstärke.

[1]) Verf. von Fernbach und Wolff. Vgl. Wochenschr. f. Brauerei 1903, 594.

Durch weitere Beschränkung des Malzzusatzes liess sich also eine Vergrösserung der Ausbeute gegenüber dem Vorversuch erzielen. In dem Moment, in welchem die erste Trübung bemerkbar wird, kann man in der Flüssigkeit mit Jodlösung bereits Spuren von Erythrodextrin nachweisen, nach 1 ½ Stunden ist die Koagulation noch nicht beendet, die Rotfärbung bereits sehr deutlich erkennbar.

Analyse des Filtrats von der „koagulierten Stärke" nach 3 Tagen:

Trockensubstanz 3,251 %

5 ccm reduzieren 0,2095 Cu O = 0,1674 Cu

= 0,1471 Maltose

Drehungswinkel 10° 0′

Hieraus berechnet sich:

$R_{[M]} = 72{,}4\,\%$

$[\alpha]_D = 153{,}9$

Es ist aus den angegebenen Tatsachen zu schliessen, dass der Malzauszug von Anfang an abbauend auf die Stärkelösung einwirkt und dass erst, wenn ein gewisses Stadium der Hydrolyse erreicht ist, eine Ausfällung der Stärkesubstanz stattfinden kann.

Verwendet man statt löslicher Stärke Stärkekleister, so findet die Koagulation in gleicher Weise, aber erst nach viel längerer Zeit statt, weil die Diastase den Kleister erst verflüssigen muss, ehe sie eine Ausfällung bewirken kann. Wenn bei Verwendung löslicher Stärke die Koagulation nicht auf der Stelle eintritt, so ist dies also darauf zurückzuführen, dass auch deren Verflüssigungszustand für den Eintritt einer solchen nicht vollkommen genug ist.

Diese Annahme wurde bestätigt durch folgenden Versuch:

In einem Probegläschen wurden 10 ccm 5 %iger Stärkelösung mit 0,1 ccm Malzauszug versetzt. Nach 1 Stunde, als die Flüssigkeit schon deutlich getrübt war, wurde aufgekocht, abgekühlt und aufs neue 0,1 ccm Malzauszug zugegeben. Die Koagulation trat jetzt bereits nach 15 Minuten ein.

Nach der angegebenen Methode wurden im Ganzen ca 100 g rohe, koagulierte Stärke dargestellt.

Das Produkt war nach öfterem Auswaschen (bis das Filtrat Fehling'sche Lösung nicht mehr reduzierte), in kochendem Wasser nur unvollständig löslich. Eine Probe wurde deshalb mit Wasser aufgeschlämmt und im Autoklaven sechs Minuten auf 130° erhitzt, wobei bis auf einen kleinen, flockigen Rest alles in Lösung ging. Die Hauptmenge wurde der gleichen Behandlung unterzogen. Kühlte man die Lösung jetzt auf 20° ab, so erfolgte fast augenblicklich eine starke Trübung und allmählich setzte sich fast das ganze, in Lösung befindliche Produkt in Form eines dichten Schlammes am Boden des Gefässes ab. Die obenstehende Flüssigkeit enthielt 1,28 % Substanz gelöst und gab mit Jod eine rote Reaktion.

Die ausgeschiedene Stärke wurde auf einem Filter gesammelt, mehrmals gewaschen und wieder im Autoklaven zur Lösung gebracht. Es zeigte sich, dass das Produkt bei mehrmaliger analoger Behandlung bedeutend schwerer löslich wurde, als am Anfang der Reinigung, sodass die Wiederauflösung schliesslich nur mehr bei einer Temperatur von 150° gelang.

Die Bestimmung des Drehungs- und Reduktionsvermögens konnte aus besagten Gründen nur mit verdünnten Lösungen und bei raschestem Arbeiten vorgenommen werden. Lösungen, die mehr als 2,5% Substanz enthalten, sind überhaupt nicht polarisierbar. Der Reinigungsprozess wurde im Ganzen siebenmal wiederholt.

Analyse.

Ausscheidung	spez. Drehung	Reduktion	% Trockensubstanz der „Mutterlauge“
1	196,2	4,0	1,28
3	195,1	2,6	—
4	194,4	3,4	—
6	191,0	3,9	1,25
7	190,0	3,2	1,40

Vergegenwärtigt man sich, dass die lösliche Stärke ein Drehungsvermögen von 216° hat und Fehling'sche Lösung überhaupt nicht reduziert, so wird man unmittelbar aus den obigen Resultaten den Schluss ziehen müssen, dass die „koagulierte Stärke“ ein Abbauprodukt ist, welches von der natürlichen Stärke vollständig abweichende Eigenschaften besitzt und wegen der darin enthaltenden reduzierenden Bestandteile keinesfalls mit der reinen Amylose identifiziert werden darf.

Unter dem Mikroskop erscheint das Produkt in Form runder Gebilde von ausserordentlicher Gleichmässigkeit und Kleinheit. Sphärokrystalle konnten nicht festgestellt werden, da auch bei stärkster Vergrösserung nur punktförmige Partikelchen beobachtet werden konnten.

Überschichtet man die trockenen Körner mit Jodlösung, so nehmen dieselben rein blaue Färbung an. Die wässerige Lösung wird bei sehr starker Verdünnung anfangs blau, dann blauviolett, schliesslich rotviolett gefärbt.

Das mikroskopische Verhalten im Verein mit der Reaktion gegen Jod kennzeichnen die „koagulierte Stärke“ somit ebenfalls als Abbauprodukt.

Ein rein äusserliches Merkmal unterscheidet die künstliche von der natürlichen Stärke:

Versucht man, erstere durch Aufstreichen auf Tonteller oder auf Filtrierpapier zu trocknen, so erhält man eine harte, hornige Masse[1]), welche so zäh ist, dass sie kaum zerrieben werden kann, während lösliche Stärke (nach Auffassung der französischen Forscher: unreine Amylose) unter gleichen Umständen ein fein verteiltes, pulvriges Produkt liefert. In dieser feinpulvrigen Form kann die koagulierte Stärke erhalten werden, wenn man sie der langsamen Trocknung auf dem Filter überlässt. Das Produkt bildet auf diese Weise nach 10—14 Tagen einen Kuchen, der sich schon zwischen den Fingern zu einem feinen Mehl zerreiben lässt. (Wassergehalt 19,6 %.)

Dass das Produkt in Lauge vollkommen löslich ist, sei nur nebenbei angegeben Es ist dies eine Eigenschaft, die allen hochmolekularen, schwerlöslichen Stärkeabbauprodukten zukommt.

Verzuckerung der „koagulierten Stärke."

Die folgenden Versuche wurden mit einer 4%igen Lösung ausgeführt, welche bei 150° hergestellt und nach Abkühlen auf 50° sofort mit der erforderlichen Diastaselösung versetzt wurde, um jegliche Ausscheidung zu vermeiden. Proben 1 und 2 wurden nebeneinander vier Tage bei 58° verzuckert und zwar mittels Merck'scher Diastase. Die Proben 3 und 4 wurden unter Zusatz von Grünmalzauszug aufbewahrt, welcher ebenso wie die Stärkelösung mit $^3/_5$ derjenigen Säuremenge versetzt worden war, die zur völligen Neutralisation gegen Methylorauge genügte. Die folgende Tabelle zeigt die gebildete Maltose in % der Trockensubstanz des Verzuckerungsgemisches an, ferner das spezifische Drehungsvermögen am Ende der Verzuckerung.

(Das Reduktionsvermögen des Grünmalzauszuges fand keine Berücksichtigung. Die wirklichen Reduktionswerte der Proben 3 und 4 sind infolgedessen etwas niedriger anzunehmen).

Probe	1	2	3	4
Zu Beginn	76,8	—	79,7	—
Nach $^1/_4$ Stunde	84,9	—	88,2	—
Nach 1 Stunde	90,4	—	91,8	—
Nach 5 Stunden	91,2	—	92,5	—
Nach 4 Tagen	90,9	91,6	92,5	92,8
$[\alpha]_D$	140,0	138,6	132,5	130,1

Eine weitere Probe wurde bei 20° mit einem Überschuss von Diastaselösung verzuckert. Von der leichten Trübung, die sich trotz schnellen Abkühlens der 4%igen Versuchslösung nicht vermeiden liess, wurde sofort nach Zusatz der Diastase abfiltriert und im Filtrat die erste Reduktionsbestimmung gemacht. Es ergab sich:

[1]) Wassergehalt 8,85 %.

	Reduktionsvermögen
12 Min. nach Diastasezusatz	62,4
19 „ „ „	76,4
28 „ „ „	82,0
nach 1 Stunde	84,9
„ 3 Tagen	89,1
„ 11 „	91,47

$[\alpha]_D = 139{,}7$

Verzuckert man demnach die Amylose beim Optimum der Temperatur, so erfolgt, wie Maquenne und Roux[1]) richtig bemerkt haben, der Abbau ausserordentlich rasch und es findet schon kurz nach Zusatz der Diastase keine Färbung des Gemisches durch Jodlösung mehr statt. Während aber jene Forscher bereits am Anfang der Hydrolyse 94% Maltose konstatierten, konnte Verf. mittels der gewichtsanalytischen Methode nur 80% in dem Verzuckerungsgemisch nachweisen. Wenn schon hieraus hervorgeht, dass der Übergang der Amylose in Zucker kein unmittelbarer ist, so wird dies durch die Hydrolyse bei 20° einwandfrei bewiesen Man kann dabei durch das allmähliche Steigen des Reduktionsvermögens, das Sinken des Drehungsvermögens und durch den Wandel der Jodreaktion das Verschwinden der Stärke und die Zwischenbildung von Dextrinen deutlich verfolgen. Diese Möglichkeit eines partiellen Abbaues der Amylose hatte Verf. schon nach Darstellung eines ihrer Abbauprodukte, des Erythrodextrins IIα vorausgesehen, durch die beschriebenen Experimente ist für die Existenz dieses Dextrins als selbständiger Körper ein neuer Beweis erbracht.

Die Versuche zeigen ferner, dass sich eine völlige Verzuckerung der Amylose nur auf Grund des niedrigen Drehungsvermögens nach erfolgter Hydrolyse annehmen lässt. Diese Annahme wird widerlegt durch die gravimetrische Bestimmung des wirklich am Ende des Stärkeabbaues vorhandenen Zuckers. In einer Probe überzeugte sich ausserdem Verfasser, dass nach Zerstörung der Diastase durch Aufkochen und folgender Vergärung der Maltose, durch Zusatz von 95% Alkohol zu der eingedampften Lösung ein Niederschlag von unverzuckerten Bestandteilen gefällt wurde.

Auf Grund der angeführten Versuchsergebnisse ist die „koagulierte“ Stärke als ein Stärkespaltungsprodukt zu betrachten, welches nach wiederholter Behandlung unter erhöhtem Druck eine Änderung des Kondensationszustandes erleidet, wodurch die charakteristische Schwerlöslichkeit des Produktes hervorgerufen wird. Die Verzuckerung erfolgt weitgehender, wie bei roher Stärke und erreicht ihr Ende, wenn 85 - 90% Maltose gebildet sind. Die Verzuckerung ist eine graduelle und geht vor sich unter Zwischenbildung von Dextrinen.

[1]) Compt rend. 143, 144, vgl. Wochenschr. f. Brauerei 1906, S. 486.

In der natürlichen Stärke kann dieses Produkt in der Form, in der es isoliert wurde, nicht enthalten sein, weil es Reduktionserscheinungen gegen Fehling'sche Lösung zeigt.

Versuche über die Rückbildung der Stärke.

Wie schon angegeben, (vgl. S. 26) wollen Maquenne und Roux auch ohne Mitwirkung eines Enzyms die reine Amylose dargestellt haben. Genannte Forscher liessen Stärkekleister bei 10° längere Zeit stehen, wobei sich Ausscheidungen bildeten, welche durch „Auslaugen" der in Lösung gebliebenen leichter angreifbaren Stärkebestandteile mittels Malzauszug in Form eines flockigen Niederschlags erhalten und in analoger Weise wie die „koagulierte Stärke" gereinigt wurden.

Die Darstellung erfolgte also in Wirklichkeit mit Hilfe von Malzenzym, wobei Maquenne und Roux sich von der Annahme leiten liessen, dass die innerhalb des Kleisters ausgeschiedene „Amylose" durch Diastase nicht angegriffen werden kann.

Verfasser schliesst dagegen aus den Erfahrungen, die er bei Darstellung und Analyse der koagulierten Stärke sammelte, dass die beim Stehenlassen des Kleisters gallertartig sich ausscheidende Substanz ursprünglich aus unveränderter Stärke besteht, welche unterhalb der Verkleisterungstemperatur in Wasser unlöslich ist, welche jedoch bei Einwirkung von Diastase und nachfolgender wiederholter Behandlung unter erhöhtem Druck in analoger Weise, wie die koagulierte Stärke einen Abbau erleidet. Verfasser fand diese Ansicht bestätigt bei Versuchen, die Amylose tatsächlich ohne Zuhilfenahme von Malzauszug herzustellen und bei der Untersuchung des nach der Vorschrift von Maquenne und Roux bereiteten Produktes.

Versuche.

1. Je 10 g Kartoffelstärke wurden mit 100, bezw. 200 ccm Wasser verkleistert und einzelne Portionen der Kleister bei 0°, bezw. 17—20° unter Zusatz von Äther mehrere Tage stehen gelassen. Die in der Kälte aufbewahrten Proben waren fest gefroren und bildeten nach Wiederauftauen zähe, gelatinöse Massen, aus welchen sich das Wasser fast vollständig ausquetschen liess und welche sich schliesslich fein zerreiben und trocknen liessen. Erhitzte man die dermassen bereitete Substanz mit Wasser, so erfolgte anfangs Kleisterbildung, wenn auch der so erhaltene Kleister nicht die durchaus homogene Beschaffenheit gewöhnlichen Stärkekleisters zeigte. Bei längerem Erhitzen im kochenden Wasserbad konnte ebenfalls keine vollkommene Lösung erzielt werden, welche erst nach 10 Minuten langer Behandlung bei 3 Atmosphären eintrat. Die stark opalisierende Flüssigkeit wurde

in Proben, welche 2,5, bezw. 4,3, bezw. 8,5 % u. s. w. Trockensubstanz enthielten, aufbewahrt. Es gelang jedoch auf keine Weise, ähnlich wie bei der Koagulation der Stärke, Ausscheidungen aus diesen Lösungen zu erhalten. Sämtliche Proben waren nach zwei Tagen zu homogenen Gallerten erstarrt, welche bei wiederholtem Erhitzen unter Druck zwar dünnflüssiger wurden, ohne dass jedoch nachher eine Ausfällung sichtbar wurde.

2. Versuche, in gleicher Weise aus den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kleistern ein Ausscheidungsprodukt zu isolieren, scheiterten ebenfalls, indem die betreffenden Lösungen in allen Konzentrationen gelatinös erstarrten und auch sonst dieselben Erscheinungen, wie bei den Ausfrierversuchen beobachtet wurden.

3. Auch Lösungen von löslicher Stärke zeigen nach längerem Stehenlassen ein ähnliches Verhalten, wie frischer Kleister. Eine 5 %ige Lösung erstarrt nach 1 – 2 Tagen gallertartig und es gelingt weder durch Ausschütteln mit Wasser, noch durch Ausfrieren zwei Produkte von verschiedener Löslichkeit von einander zu trennen.

4. Eine 10 %ige Lösung von 30 g löslicher Stärke wurde sofort nach der Bereitung 10 Minuten auf 150° erhitzt. Nach kurzer Zeit erstarrte die erkaltete Lösung wiederum gallertartig, doch gelang es nach Zusatz von viel Wasser und längerem Umrühren eine feinere Verteilung des gallertartigen Produktes herbeizuführen und dasselbe am Boden des Gefässes unter einer schwach opalisierenden Flüssigkeit anzusammeln. Letztere besass nach dem Filtrieren ein Drehungsvermögen

$$[\alpha]_D = 204{,}9^0,$$

die Menge des abgeschiedenen Produktes betrug nach siebenmaligem Auswaschen 4,5 g (19 % der Trockenstärke). Dasselbe war in siedendem Wasser fast gänzlich löslich. Die Lösung verhielt sich gegen Fehling'sche Lösung inaktiv und färbte sich nach Zusatz von Jodlösung rein blau. Die spezifische Drehung wurde in 2,43 %iger Lösung bestimmt, es ergab sich:

$$[\alpha]_D = 201{,}4^0.$$

Dieselbe Lösung blieb, bei Zimmertemperatur aufbewahrt, längere Zeit klar, trübte sich erst nach einigen Stunden und wurde zähflüssig, ohne dass irgendwelche Ausscheidung erfolgte. Auch Erhitzen im Autoklaven auf 150° führte zu keinem Resultat. Die Lösung wurde schliesslich verzuckert und eine Endproduktion von 88,2 % Maltose bei einem Drehungsvermögen von 142,2° festgestellt.

Verfasser sieht nach den angeführten Versuchen keine Möglichkeit gegeben, die vollständig homogene Beschaffenheit des Stärkekleisters und der Stärkelösungen ohne Hilfe von Malzauszug oder von anderen Hydrolysierungsmitteln aufzuheben. Sobald man dagegen Stärkelösungen, die mehrere Tage aufbewahrt waren, nach der Vor-

schrift Maquenne's mit diastatischem Auszug behandelt, findet eine Trennung statt: Ein Teil der Gallerte geht langsam in Lösung, ein anderer Teil verdichtet sich zu einem flockigen Gerinsel, welches nach sorgfältigstem Auswaschen und Wiederlösen bei 130° Reduktionserscheinungen gegen Fehling'sche Lösung zeigt und dieselben auch bei wiederholter analoger Behandlung beibehält. Das so erhaltene Produkt entspricht in allen seinen Eigenschaften vollkommen der „koagulierten Stärke". Bei fortgesetzter Reinigung, unter Anwendung erhöhten Drucks, wird dasselbe schwerer löslich, sodass die Lösungen sich schon während des Erkaltens stark trüben und ein rasches Gerinnen erfolgt. Nach fünfmaligem Umfällen wurde eine Probe, welche 1,84% Trockensubstanz enthielt, polarisiert und ein Drehungsvermögen von 197,1 festgestellt. 25 ccm derselben Lösung ergaben beim Kochen mit 50 ccm Fehling'scher Lösung: 0,0283 g Cu O = 0,224 g Cu = 0,0184 g Maltose. Dem entspricht ein Reduktionsvermögen von 3,9%. Die Jodprobe verläuft ebenso, wie bei der koagulierten Stärke.

Der Verlauf der Verzuckerung ist bei gewöhnlicher Temperatur ein progressiver, was aus dem allmählichen Verschwinden der Jodfärbung hervorgeht, beim Optimum der Temperatur ein rapider. Zwei Hydrolysen, deren eine bei 16°, deren andere bei 59° vorgenommen wurde, ergaben eine Grenzverzuckerung von 88,9 bezw. 92,6% (Maltose). Das Drehungsvermögen konnte nicht bestimmt werden.

Aus den geschilderten Eigenschaften der „rückgebildeten" Stärke geht hervor, dass wir es hier ebenfalls mit einem Abbauprodukt von bestimmtem Kondensationszustand zu tun haben, dessen Verhalten nicht dazu berechtigt, über die chemische Zusammensetzung der natürlichen Stärke bestimmte Schlüsse zu ziehen.

Versuche, Amylose und Amylopectin zu trennen.

Es wurde bereits erwähnt, dass Maquenne und Roux, Fernbach und Wolff im Gegensatze zu den Anschauungen der früheren Beobachter den Stärkekleister als chemisch inhomogen betrachten.

Nach Maquenne und Roux besteht nämlich frisch bereiteter Stärkekleister einerseits aus Amylose, welche sich darin im Zustande einer vollkommenen Lösung befindet, andrerseits aus einem unlöslichen, schleimartigen Körper, dem Amylopectin.

Diese Erklärung über die Zusammensetzung des Stärkekleisters würde eigentlich unmittelbar zu dem Schlusse führen, dass bei Einwirkung von lösenden Mitteln, hauptsächlich von Malzauszug, das unlösliche Amylopectin viel schwerer angegriffen werde, als die ohnehin schon in vollkommener Lösung befindliche Amylose.

Mit dieser Anschauung würde auch die Hypothese in Einklang stehen, dass bei der Verzuckerung der Stärke das Amylopectin nur bis zur Bildung von Dextrinen abgebaut wird, während die Amylose vollständig in Maltose übergeführt wird.

Diese Folgerung trifft jedoch nach Fernbach und Wolff nicht zu, vor allem nicht bei Anwendung geringer Mengen diastasischen Auszugs.

Nach diesen Forschern wird nämlich gelöste Stärke durch ein im Malz enthaltenes koagulierendes Enzym derart zerlegt, dass die gelöste Amylose ausgefällt, das unlösliche Amylopectin dagegen sehr leicht in Lösung gebracht wird.

Sei dem nun wie immer, es müsste jedenfalls, wenn ein Teil des Stärkekleisters in Lösung geht, stets eine gewisse Trennung desselben in chemisch inhomogene Bestandteile möglich sein, derart, dass entweder der unlösliche Rückstand oder die erhaltene Lösung bei weiterer Verzuckerung mehr oder weniger Maltose bezw. Dextrine liefern würde. Ein gleiches Verhalten der beiden Bestandteile bei der Verzuckerung wäre sicher nur dann zu erwarten, wenn der ursprüngliche Stärkekleister eine chemisch homogene Masse darstellt.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, wurde folgende Versuchsreihe aufgestellt:

Viermal je 20 g Stärke wurden mit 200 ccm Wasser und 1 ccm einer 1% igen Lösung von Merck'scher Diastase im kochenden Wasserbad unter starkem Umschütteln verkleistert und sofort nach erfolgter Verkleisterung (bei 65°) auf Zimmertemperatur abgekühlt. Durch Nachwirkung der Diastase wurde in kurzer Zeit ein Teil der Stärke verflüssigt, sodass die Proben leicht und klar filtriert werden konnten.

a

Die Filtrate zeigten nach 24 Stunden keine Spur einer Jodreaktion und wurden nach Ablauf dieser Zeit analysiert:

Probe	1	2	3	4
Konzentration	6,36	6,25	6,15	6,25
Spez. Drehung	151,3	152,0	152,5	152,0
Reduktionsvermögen	63,25	64,0	63,7	64,0

Die Proben 1 und 2 erhielten sodann einen Zusatz von je 5 ccm, 3 und 4 von je 10 ccm Diastaselösung 1 : 100 Die Verzuckerung erfolgte im konstanten Wasserbad bei 58°. Die Endresultate wurden nach 5—9 Tagen bestimmt.

Probe	1	2	3	4
Spez. Drehung	143,0	145,8	139,6	141,8
Reduktionsvermögen	80 8	82,0	80,6	78,8

b

Die auf den Filtern gesammelten Produkte waren in siedendem Wasser nicht vollständig löslich und wurden deshalb bei 140° in Lösung gebracht. Da beim Abkühlen der Proben bereits bei 35° eine starke Trübung entstand, wurden dieselben nochmals gelöst und bei 55° einer möglichst weitgehenden Verzuckerung unterzogen. Die Bestimmung der Trockensubstanz erfolgte hier, wie stets auf gravimetrischem Wege durch Eindampfen einer bei 17,5° genau abgemessenen Flüssigkeitsmenge auf dem Uhrglase und Trocknen im Vacuum bei 98° bis zur Gewichtskonstanz.

Probe	I	II	III	IV
Spez. Drehung	139,4	138,6	142,1	140,4
Reduktion	85,3	81,9	81,2	81,0

Die beiden Tabellen ergeben vereinigt folgendes Bild:

Proben	1	I	2	II	3	III	4	IV
Spez. Drehg.	143,0	139,4	145,8	138,6	139,6	142,1	141,8	140,4
Reduktion	80,8	85,3	82,0	81,9	80,6	81,2	78,8	81,0

Beim Vergleich der Parallelproben findet man keinen Anhaltspunkt, dass hier zwei verschiedengeartete Stärkebestandteile von einander getrennt worden sind

Die Versuche beweisen vielmehr indirekt die homogene Zusammensetzung des Stärkekleisters, der auf rein physikalischem Wege überhaupt nicht zerlegt werden kann, mit Hilfe von Malzenzym nur in Bestandteile, welche bei der Analyse vollkommen analoges Verhalten zeigen; sie bestätigen ferner, dass die Verzuckerung der natürlichen Stärke ein Ende findet, wenn 81—85% Maltose gebildet sind.

Die geringen Abweichungen in der Maltoseproduktion bei den zusammengehörigen Proben entsprechen nicht der Vorstellung, dass die Amylose den zuckerbildenden, das Amylopectin den dextrinbildenden Stärkebestandteil vorstellt, in diesem Falle wäre eine viel weitgehendere Hydrolyse der mit arabischen Ziffern bezeichneten Proben zu erwarten gewesen.

Zusammenfassung.

1. Darstellung eines schwerlöslichen, sphärisch krystallisierenden Erythrodextrins durch beschränkte Einwirkung von Diastase auf lösliche Stärke.

2. Charakterisierung des Dextrins als Spaltungsprodukt der reinen Amylose im Lichte der neueren Forschung.

3. Verzuckerung des Dextrins mittels Diastase: Dieselbe ist eine progressive und begrenzte.

4. Die natürliche Stärke ist chemisch homogen zusammengesetzt und enthält nur geringe Mengen eines z e l l stoffartigen Körpers, der Amylo c e l l ulose. Dieser Körper ist die Hüllensubstanz der Stärkekörner und unterscheidet sich von der Grundmasse nur physikalisch durch dichtere Lagerung der Schichten.

Die Stärkesubstanz kann sehr treffend mit Amylose bezeichnet werden.

5. Die Amylose der neueren Forschung ist nicht identisch mit der Amylocellulose, sondern mit dem Grundkörper des Stärkekorns, der Granulose Nägeli's.

6. Die Verzuckerung der Amylose ist eine progressive und vollzieht sich unter Zwischenbildung von Dextrinen.

7. Die diastatische Verzuckerung der Amylose ist ebenso, wie die ihrer Abbauprodukte, eine begrenzte. Der unverzuckerbare Rest beträgt je nach den Bedingungen, unter denen der Abbau stattfindet, 13 – 20% der Stärketrockensubstanz.

8. Die Hypothese von der Existenz eines schleimartigen Körpers (Amylopectins) als Ursache der Kleister- und Dextrinbildung muss fallen gelassen werden.

9. Stärkekleister kann auf physikalischem Wege nicht in verschieden zusammengesetzte Bestandteile zerlegt werden. Alle „künstlichen Stärken" die mit Hilfe noch so geringer Mengen diastatischen Auszuges aus dem Kleister ausgeschieden werden, sind Abbauprodukte der Stärke.